

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO PROFISSIONAL EM OLERICULTURA

LEVANTAMENTO DE FITONEMATOIDES E
CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE POPULAÇÕES DE
Meloidogyne spp. EM ÁREAS CULTIVADAS COM
HORTALIÇAS NA REGIÃO SUL DO ESTADO DE GOIÁS

Autor: José Orlando de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Vieira da Silva

MORRINHOS-GO
Março de 2016

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO PROFISSIONAL EM OLERICULTURA

LEVANTAMENTO DE FITONEMATOIDES E
CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE POPULAÇÕES DE
Meloidogyne spp. EM ÁREAS CULTIVADAS COM
HORTALIÇAS NA REGIÃO SUL DO ESTADO DE GOIÁS

Autor: José Orlando de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Vieira da Silva

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM OLERICULTURA, no Programa de Mestrado Profissional em Olericultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos – Área de concentração manejo fitossanitário em olerícolas.

MORRINHOS-GO
Março de 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Câmpus Morrinhos

O481 Oliveira, José Orlando de.

Levantamento de fitonematoides e caracterização bioquímica de populações de *Meloidogyne* spp. em áreas cultivadas com hortaliças na região Sul do Estado de Goiás / José Orlando de Oliveira. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2016.

47 f. : il. color.

Orientador: Dr. Rodrigo Vieira da Silva.

Trabalho de conclusão de curso (mestrado) – Instituto Federal Goiano Câmpus Morrinhos, Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Olericultura, 2016.

1. Nematoides das galhas. 2. Eletroforese. 3. Georreferenciamento. I. Silva, Rodrigo Vieira da. II. Instituto Federal Goiano. Mestrado Profissional em Olericultura. III. Título

CDU 635(043.3)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por permitir a conclusão de mais uma etapa em minha vida, porque nenhuma folha cai se não for da vontade dele.

À Fundação de Amparo a Pesquisa de Goiás – FAPEG, pela concessão da bolsa de estudos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior – CAPES.

A todos meus familiares, em especial minha mãe, Doralice Rosa Bernardes de Oliveira por todo o apoio e incentivo, à minha esposa Luciene Ferreira da Cunha e aos meus filhos Leonardo Inocêncio Cunha e Júlia Inocêncio Cunha de Oliveira, por todo o apoio recebido.

Ao Professor Doutor Rodrigo Vieira da Silva, pela orientação, dedicação, ensino, paciência e amizade no desenvolvimento do trabalho.

À Professora Doutora Aline Ferreira Barros, por toda a ajuda na realização das análises bioquímicas.

Ao senhor Edgar Rodrigues Gomes supervisor regional, e à Neide Maria de Oliveira, assessora administrativa da EMATER/Agência da região Sul de Goiás.

Aos colegas de trabalho da unidade local da EMATER/AGÊNCIA, Almeire Maria Ribeiro, Maria de Fátima Martins, Sisley Alves de Souza e Waldir Fernandes da Costa, pela ajuda no decorrer do trabalho.

A todos os colegas de trabalho da Escola Municipal Celestino Filho, pelo apoio, ajuda e compreensão no decorrer do trabalho.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos e ao programa de Pós-Graduação em Olericultura.

Aos Laboratórios de Nematologia da Universidade Federal de Lavras e da Universidade Federal de Viçosa, pela realização das análises bioquímicas das populações de *Meloidogyne* spp..

A todos os amigos que, de forma direta ou indireta, colaboraram para a realização deste trabalho.

E a todos que, de forma direta ou indireta, ajudaram-me na realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

José Orlando de Oliveira, filho de Doralice Rosa Bernardes de Oliveira e Orlando Inocência de Oliveira, nasceu em 01 de dezembro de 1970 em Morrinhos-GO.

Concluiu o curso de Licenciatura Plena em Geografia na UEG – Câmpus Morrinhos em janeiro de 2001; concluiu o curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas na UFG – Campus Samambaia em maio de 2012; concluiu os cursos *Latu Sensu* em Formação socioeconômica brasileira, pela Universidade Salgado de Oliveira em março de 2003, e em Geografia e gestão ambiental pela UEG – Campus Morrinhos, em março de 2006.

Concluiu o Curso de Bacharelado em Agronomia em março de 2016, no Instituto Federal de Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos.

Iniciou, em março de 2014, o mestrado profissional em olericultura pelo Programa de Pós-Graduação em Olericultura, no Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos, sob orientação do Professor Doutor Rodrigo Vieira da Silva.

ÍNDICE GERAL

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE APÊNDICE.....	viii
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS E UNIDADES.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRAT.....	xii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
OBJETIVOS.....	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	10
NEMATOIDES ASSOCIADOS A HORTALIÇAS E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE NEMATOIDES DAS GALHAS EM ÁREAS PRODUTORAS DE HORTALIÇAS NO SUL DE GOIÁS.....	14
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
4. CONCLUSÃO.....	28
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
APÊNDICE.....	32

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO I	
Tabela 1. Distribuição das populações de <i>Meloidogyne</i> spp. nas áreas produtoras de hortaliças dos municípios da região Sul do Estado de Goiás amostrados durante o triênio 2013 a 2015.....	22

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO I	
Figura 1 – Mapa de Goiás exibindo a localização dos municípios da região Sul onde foi realizado as coletas de amostras de solo e raízes em áreas de cultivo de hortaliças para análises nematológicas no triênio 2013 a 2015. (IBGE, 2015).....	18
Figura 2 – Ocorrência em percentual de gêneros de fitonematoides em áreas produtoras de hortaliças na região Sul do Estado de Goiás durante o levantamento no triênio 2013 a 2015.....	20
Figura 3 – Hortaliças exibindo sintomas de galhas nas raízes causadas por <i>Meloidogyne</i> spp.: (A) tomateiro, (B) alface, (C) cenoura, (D) mandioca, (E) abóbora, (F) quiabeiro. As amostras foram coletadas no triênio de 2013 a 2015, na região Sul do Estado de Goiás.....	21
Figura 4 – (A) Percentual de amostras infectadas com nematoides das galhas radiculares. (B) Percentual de <i>Meloidogyne</i> spp. nas amostras infectadas. Amostras oriundas de áreas produtoras de hortaliças da região Sul do Estado de Goiás coletadas no triênio 2013 a 2015.....	23
Figura 5 – Fenótipos de esterase de fêmeas extraídas de duas amostras de raízes de quiabeiro: (A) <i>Meloidogyne javanica</i> - Mj e (B) <i>Meloidogyne incognita</i> - Mi de amostras coletadas na região Sul do Estado de Goiás no triênio de 2013-2015.....	24
Figura 6 – Quantidade de amostras infectadas, ou não, com as espécies <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i> e <i>Meloidogyne</i> spp., coletadas na região Sul do Estado de Goiás no triênio 2013-2015.....	25
Figura 7 – Número de amostras coletadas em relação à ocorrência de fitonematoides por espécie de hortaliças, nos municípios na região Sul do Estado de Goiás no triênio 2013-2015.....	25

ÍNDICE DE APÊNDICES

	Página
CAPÍTULO I	
Apêndice A. Ficha de informações para auxílio na identificação de nematoides parasitas de plantas.....	33

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS E UNIDADES

Símbolo ou sigla	Significado	Unidade
Coord. Geográfica	Intersecção entre um Paralelo e um Meridiano de um lugar da Terra.	Paralelo e Meridiano
Latitude	Distância ao Equador medida ao longo do meridiano de Greenwich, esta distância mede-se em graus, podendo variar entre 0° (no equador) e 90° para Norte ou para Sul.	(°), (') e (")
Longitude	Localização de um lugar na Terra medido em graus, de zero a 180° para leste ou para oeste, a partir do Meridiano de Greenwich.	(°), (') e (")
°C	Unidade de temperatura denominada de Grau Celsius.	Centésimos (100 partes)
μL	Unidade de volume equivalente à milionésima parte de um litro.	10 ⁻⁶ L
Há	Unidade de medida denominada de hectare.	1 hectare (10.000 m ²)
V	Unidade de tensão elétrica (diferença de potencial elétrico) do Sistema Internacional de Unidades.	Volt

RESUMO

OLIVEIRA, JOSÉ ORLANDO. Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos-GO, fevereiro de 2016. **Levantamento de fitonematoides e caracterização bioquímica de populações de *Meloidogyne* spp. em áreas cultivadas com hortaliças na região Sul do Estado de Goiás.** Orientador: Dr. Rodrigo Vieira da Silva.

O Estado de Goiás destaca-se na produção de hortaliças no contexto nacional e sua produção cresce ano após ano. Entretanto, o aumento da produtividade e consequentemente da produção poderiam ser ainda maiores se não fosse o ataque de fitonematoides, principalmente, os formadores de galhas que são os que mais causam danos em hortaliças. As áreas produtoras de hortaliças em Goiás são utilizadas intensivamente e submetidas à monocultivos com uso da irrigação. Este sistema produtivo favorece a multiplicação dos nematoides, tendo como consequência grande prejuízo devido ao seu parasitismo. No Estado de Goiás, praticamente não existem levantamentos da ocorrência de populações de nematoides em hortaliças. Assim o presente trabalho teve como objetivo realizar um levantamento e a caracterização bioquímica de nematoides de galhas em áreas de cultivo de hortaliças na região Sul do Estado de Goiás. Realizou-se amostragem em 39 propriedades, 68 amostras, numa área total de 62,1 hectares, durante os anos de 2013 a 2015, abrangendo 13 municípios: Morrinhos, Piracanjuba, Goiatuba, Pontalina, Caldas Novas, Joviânia, Itumbiara, Água Limpa, Corumbaba, Bom Jesus de Goiás, Buriti Alegre, Rio Quente e Marzagão. Em cada propriedade foram amostradas diferentes áreas de cultivos, onde foram retiradas várias sub amostras para compor uma amostra composta de solo e raízes. Nas amostras que apresentaram sintomas de infecção de nematoide das galhas realizou-se a caracterização bioquímica das espécies por meio de isoenzimas (fenótipo de esterase) das fêmeas contidas nas raízes com galhas. Das amostras coletadas foram extraídos nematoides do solo e das raízes e a suspensão com os mesmos transferidos para uma lâmina e foram analisados

em microscópio de luz. A identificação dos gêneros foi feita com auxílio da chave de identificação de fitonematoides. Em todas as amostras foram encontrados nematoides de vida livre e em 33 amostras foram encontrados nematoides fitoparasitas. Os principais gêneros encontrados foram *Meloidogyne* com 22%, *Helicotylenchus* com 19%, *Tylenchus* com 13%, *Tylenchulus* com 10%, *Ditylenchulus*, *Rotylenchulus* e *Xiphinema* com 6%, *Pratylenchus*, *Hemicycliophora*, *Xiphidorus*, *Anguina*, *Tubixaba* e *Monotrichodorus* com 3%. Das 68 amostras, 45 apresentaram-se infectadas com nematoide das galhas, o que representou 66% das amostras. Das amostras infectadas 49% foram identificadas como *M.incognita*, 24% com *M. javanica* e 27% como *Meloidogyne* spp.. Aproximadamente 34% das amostras não estavam infectadas por nematoides das galhas. Com base nos resultados, pode-se concluir que a maior parte das áreas cultivadas com hortaliças na região Sul do Estado de Goiás, estão contaminadas com os nematoides das galhas, em especial *M. incognita*. O presente estudo contribuiu para o conhecimento sobre a ocorrência e disseminação das espécies de *Meloidogyne* que ocorrem em áreas cultivadas com hortaliças no Sul de Goiás. Além de subsidiar novos estudos, servi de alerta aos horticultores e, possibilita definir manejos mais adequados e eficientes visando diminuir as populações dos fitonematoides nas áreas infestadas.

PALAVRAS - CHAVES: nematoides das galhas, eletroforese, georreferenciamento.

ABSTRACT

OLIVEIRA, JOSÉ ORLANDO. Goiano Federal Institute - Campus Morrinhos-GO. February 2016. **Nematode investigation and biochemical characterization of *Meloidogyne* spp. populations in areas cultivated with vegetables in the southern region of the State of Goiás.** Advisor.: Dr. Rodrigo Vieira da Silva.

The Goiás state stands out in the production of vegetables in the national context and its production is growing year after year. However, increased productivity and consequently production could be even higher if not for the nematodes attack mainly the galls trainers who are the ones that cause damage to vegetables. The producing areas of vegetables in Goiás are used intensively and submitted to monocultures with use of irrigation. This production system favors the multiplication of nematodes, with the great loss result because of their parasitism. In the state of Goiás, there are hardly any surveys of the occurrence of nematode populations in vegetables. Thus the present study aimed to carry out a survey and biochemical characterization of nematode galls in vegetable growing areas in the southern region of the State of Goiás. Sampling was conducted in 39 establishments with 68 samples collected, a total area of 62,1 hectares, during the years 2013-2015, covering 13 municipalities: Morrinhos, Piracanjuba, Goiatuba, Pontalina, Caldas Novas, Joviânia, Itumbiara, Água Limpa, Corumbaíba, Bom Jesus de Goiás, Buriti Alegre, Rio Quente and Marzagão. In each farm were sampled areas of different crops where several sub samples were taken to make a sample of soil and roots. In the samples that presented symptoms of nematode infection of galls held the biochemical characterization of species from isoenzyme (esterase phenotype) of females contained in the roots with galls. The samples were extracted from the soil nematode or roots and with the same suspension transferred to a slide and analyzed by light microscopy. The identification of gender was made with the help of nematode identification key. In all samples were found free-living nematodes and 33 samples were found phytoparasitic

nematodes. The main genera were found *Meloidogyne* with 22%, *Helicotylenchus* with 19%, *Tylenchus* with 13%, *Tylenchulus* with 10%, *Ditylenchulus*, *Rotylenchulus* and *Xiphinema* with 6%, *Pratylenchus*, *Hemicyclophora*, *Xiphidorus*, *Anguina*, *Tubixaba* and *Monotrichodorus* with 3%. Of the 68 samples, 45 showed to be infected with root-knot nematode, which represented 66 % of the samples. 49% of the infected samples were identified as *M. incognita*, *M. javanica* 24% and 27% as *Meloidogyne* spp.. Approximately 34% of the samples were not infected by root-knot nematodes. Based on the results, it can be concluded that most of the areas cultivated with vegetables in the southern region of the State of Goiás, are infected with the nematode galls, particularly *M. incognita*. This study contributed to the knowledge of the occurrence and spread of *Meloidogyne* species that occur in areas cultivated with vegetables in southern Goiás. In addition to subsidizing new studies, service alert to horticulturists and allows you to define most suitable and efficient management strategies aimed at reducing the populations of nematodes in the infested areas.

KEYS-WORDS: root-knot nematodes, survey, georeferencing.

INTRODUÇÃO GERAL

A produção de hortaliças é de extrema importância para o agronegócio brasileiro. A estimativa do total de cultivo dos 12 principais segmentos de hortaliças reproduzidas por sementes no Brasil (Abobrinhas, Abóbora Japonesa, Alface, Beterraba, Brócolis, Cebola, Cenoura, Coentro, Couve-Flor, Feijão Vagem, Melancia, Melão, Milho Doce, Pepino, Pimentão, Quiabo, Repolho e Tomate) é da ordem de aproximadamente 842 mil hectares, com produção de 19,62 milhões de toneladas, gerando um lucro bruto de R\$11.390,00/ha e a estimativa de geração de empregos é da ordem de 2 milhões de empregos diretos, ou seja, 2,4 empregos/ha (ABCSEM, 2012).

A produção de hortaliças apresenta crescimento contínuo no Brasil, em especial no Estado de Goiás. As mesorregiões Centro e Sul Goiano se destacam como as maiores produtoras de olerícolas do Estado. No entanto, faz-se necessário o aumento da produção de hortaliças em Goiás, pois boa parte dos hortifrutigranjeiros consumidos no Estado é importada de outros Estados ou até mesmo de outros países, a exemplo da cebola e do alho, ambos oriundos da Argentina (Shumacher & Mota, 2011).

Em 2014, as hortaliças ficaram em primeiro lugar entre os produtos entregues no CEASA-GO, cerca de 500 mil toneladas, o que representou mais de 53% da oferta total de alimentos. A movimentação financeira foi cerca de 800 milhões de reais, 46,69% do orçamento, sendo que o subgrupo das hortaliças folhas somou aproximadamente 52 mil toneladas e 5,69% dessa movimentação financeira, o que representa 50 milhões de reais. O subgrupo das hortaliças frutos somou 213 mil toneladas, aproximadamente, 23,31% da oferta e o financeiro foi de 399,1 milhões de reais. Já o subgrupo raízes, tubérculos e bulbos, fez um total de mais de 221 mil toneladas, que movimentou 24,19%, ou seja, mais de 344 milhões de reais (CEASA-GO, 2014).

A questão da produtividade das olerícolas tem o envolvimento de diversos fatores, inclusive aqueles que se relacionam à sanidade da planta, às condições

estruturais do solo e aos níveis de nutrientes disponibilizados. Entre os problemas fitossanitários que acometem as hortaliças no decorrer do cultivo estão os causados por fitonematoides (Rosa *et al.*, 2013).

Os fitonematoides alimentam-se de plantas e podem parasitar diferentes órgãos das plantas: raízes, tubérculos, rizomas, bulbos, caules, folhas, flores e sementes (Ferraz *et al.*, 2010). Estes patógenos possuem ampla disseminação e são muito destrutivos, considerados um dos mais importantes fitoparasitas na agricultura mundial (Campos *et al.*, 1990).

No caso das hortaliças alho e cebola, o *Ditylenchus dipsaci* é o nematoide com maior importância no Brasil; ele ocorre em praticamente todo o mundo e pode parasitar inúmeras espécies de plantas de importância econômica, podendo ocorrer em mais de 450 espécies pertencentes a mais de 40 famílias botânicas (Goodey *et al.*, 1965). É um nematoide endoparasito migrador conhecido como o ‘nematoide dos bulbos e caules do alho’ ou ‘nematoide do amarelão do alho’, sendo uma ameaça constante em cebola e alho, devido a sua ocorrência e disseminação estar associada ao material propagativo (Pinheiro *et al.*, 2014a).

Segundo Silva *et al.*, (2014), geralmente os sintomas apresentados nas plantas provocados pelo ataque de fitonematoides podem ser divididos em sintomas primários e secundários. Os primários ocorrem no local onde o agente causador de doenças atua; os secundários ocorrem na parte aérea e são diferenciados de acordo com o hospedeiro, variando desde a murcha até a morte da planta. Os sintomas primários podem ser observados na planta, quando ela é atacada por estes organismos, e no campo pode ser diagnosticada pela ocorrência de galhas e massas de ovos no sistema radicular (Eisenback & Triantaphyllou, 1991; Karssen & Moens, 2006).

Os danos causados por nematoide das galhas também podem ser observados na parte aérea, nos chamados sintomas secundários, como a diminuição no desenvolvimento, a clorose das folhas ou morte da planta. Esses sintomas ocorrem devido à infecção ou mesmo as lesões causadas nas raízes, que diminuem a capacidade da planta de absorver água e nutrientes. As alterações podem ocorrer devido à migração dos nematoides dentro dos tecidos vegetais ou pelas alterações fisiológicas desencadeadas em suas células; no caso das galhas formadas nas raízes das diversas culturas infectadas por fitonematoides, a consequência são plantas raquíticas, amareladas, com o tamanho e volume das folhas menores, inviabilizando o processo de

comercialização (Ferraz *et al.*, 2010; Karssen & Moens, 2006; Ornat & Sorribas, 2008; Moens *et al.*, 2009).

A maioria dos fitonematoides vive no solo, juntamente com vários outros organismos fitopatogênicos que compartilham o mesmo nicho biológico. Em algumas interações, os nematoides formadores das galhas tornam-se parte de um complexo etiológico, interagem com outros agentes patogênicos, como fungos e bactérias presentes no solo, resultando em um efeito sinérgico, ou seja, maior que a soma dos danos causados por cada fitopatógeno individualmente. A consequência é o aumento da severidade de doenças na área cultivada (Ornat & Sorribas, 2008).

Apesar de sua importância, a fauna nematológica em hortaliças tem sido pouco estudada no Estado de Goiás, em especial as espécies do gênero *Meloidogyne*. Esses fitonematoides causam enormes perdas anualmente na agricultura mundial e estão entre os problemas fitossanitários mais relevantes por serem parasitas, e causam prejuízos expressivos em diversas espécies de plantas (Silva *et al.*, 2014).

Sasser & Freckman (1987) estimam que os nematoides fitoparasitas promovam perdas anuais médias de 12% nas hortaliças. O controle desses patógenos não é uma tarefa fácil, o custo é muito oneroso e, na maioria das vezes, ineficiente. Assim, é mais adequado utilizar o termo ‘manejo’, o qual dispõe de várias estratégias de controle ao longo do tempo, visando manter a população de nematoides abaixo do nível de dano econômico. Manter o sistema produtivo em equilíbrio requer o monitoramento desses patógenos nas áreas de cultivo e devem-se adotar práticas de manejo, para reduzir perdas atuais e evitar o surgimento de novos focos (Santos, 1995).

Segundo Kurozawa & Pavan (2005), no Brasil, existem dezenas de espécies de fitonematoides e muitas delas estão associadas às hortaliças, entretanto os pertencentes ao gênero *Meloidogyne* são as de maior importância econômica no país. As razões são a ampla gama de hospedeiros, que incluem a maioria das plantas cultivadas economicamente, e dentre elas estão a maioria das hortaliças. Merece destaque a espécie *Meloidogyne incognita* considerada isoladamente o pior fitopatógeno da agricultura mundial (Campos, 1985; Huang, 1992, Pimenta & Carneiro, 2005; Frago, 2006).

De acordo com Pinheiro *et al.*, (2009) as espécies *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* são as mais frequentes no Brasil. Constitui-se em indivíduos sedentários e endoparasitas obrigatórios, ou seja, eles dependem do tecido vivo da planta para sobreviverem, possuindo diversas espécies de plantas como possíveis hospedeiras (Castagnone-Sereno, 2002).

O ciclo de vida do *Meloidogyne* spp. inicia-se com o ovo e dentro dele é formado o juvenil, a partir do desenvolvimento embrionário, denominado juvenil de primeiro estágio (J1), o sistema reprodutivo não está formado. O J1 sofre a primeira ecdise no interior do ovo, durante a qual é trocada a cutícula. Após o término da ecdise é formado o juvenil de segundo estágio (J2) e eclode do ovo perfurando a casca com o estilete. Este se movimenta no solo à procura da planta hospedeira e, após encontrá-la e penetrar em sua raiz, estabelece um sítio de alimentação, liberando substâncias tóxicas que promovem a formação de células gigantes ao redor deste sítio. Paralelamente ocorre a formação das galhas nas raízes, que são sintomas característicos devido à penetração e infecção. O J2 passa por mais duas ecdises, formando juvenis de terceiro (J3) e quarto (J4) estágios. O J4 sofre sua última ecdise tornando-se adulto macho ou fêmea, com aparelho reprodutor maduro e encontrando-se agora, no interior das raízes, sendo sedentários e obesos; a duração do ciclo de vida varia de duas a quatro semanas, dependendo das condições ambientais. Em temperaturas superiores a 40 °C e ou inferiores a 5 °C a maioria das espécies de nematoides diminuem ou paralisam por completo as suas atividades vitais (Ferraz, 2001; Ferraz *et al.*, 2010).

Segundo Huang (1985), após o J2 penetrar nas raízes e estabelecer seu sítio de alimentação no parênquima vascular, ele induz a planta a uma reação de algumas células do parênquima, que ficam hipertrofiadas e multinucleadas, conhecidas como células gigantes. No caso de falha desse processo ocorre a morte do nematoide; tal processo tem sido observado em cultivares resistentes.

A identificação de algumas raças já está sendo pesquisada e divulgada, como as raças apresentadas pela espécie *M. incognita*, no caso de *M. javanica*, apesar de estudos que demonstram a existência de raças, existem muitas dúvidas ainda a esse respeito (Rammah & Hirschmann, 1990; Carneiro *et al.*, 2003; Robertson *et al.*, 2009).

Huang, (1992) afirmam que as espécies *M. incognita* e *M. javanica* podem ser encontradas juntas ou separadas, muitas vezes causando danos e consequentemente, prejuízos econômicos a diversas hortaliças; entre as mais suscetíveis estão o quiabo, a berinjela, o tomate, a abóbora e a batata. Também são encontrados danos causados por *Meloidogyne* spp. com porcentagem de 3-5% em alface, 5-7% em brócolis, 1-5% em cebolas, 1-5% em cenouras e de até 10% em couve-flor e em batata-doce, entre outras. O cultivo sucessivo de hortaliças suscetíveis em um mesmos local de produção é uma das principais causas para a elevação dos níveis populacionais de nematoides (Koenning *et al.*, 1999).

Segundo Pimenta e Carneiro (2005) o controle de *Meloidogyne* spp. em áreas de produção de hortaliças é bastante complicado devido a sua ampla distribuição em todo território nacional; esses organismos fitopatogênicos parasitam diversas espécies de plantas e a diferença biológica ligada ao parasitismo entre populações da mesma espécie causa complicação na elaboração de programas de resistência varietal e até mesmo na rotação de culturas, que são medidas de controle muito eficientes e viáveis economicamente.

O uso constante de diferentes técnicas de manejo que interfiram negativamente na população dos nematoides são estratégias viáveis ao ambiente para diminuir as populações desse parasita a níveis inferiores a aqueles que causam prejuízos econômicos (Pimenta & Carneiro, 2005).

Para Wilcken *et al.* (2005), o emprego de medidas de controle como cultivares resistentes, adubação verde com plantas antagonistas e utilização de esquemas de rotação de culturas nas áreas infestadas com *Meloidogyne* spp. é muito frequente. A rotação de cultura, técnica muito indicada no controle de fitonematoides, é muito difícil de ser utilizada, devido à prática de cultivos consecutivos de hortaliças suscetíveis em mesmas áreas.

Uma prática muito utilizada para o controle de nematoides em olerícolas era a aplicação de nematicidas sintéticos, mas esses produtos são muito tóxicos e com alta capacidade residual maléfica à saúde e à natureza. Já faz algum tempo que o método de manejo mais recomendável é o emprego de cultivares resistentes, quando há no mercado a oferta desses materiais e esta prática é a solução para controle deste patógeno (Maluf, 1997).

As informações geradas nos estudos de levantamentos populacionais da fauna nematológica são muito úteis na identificação de fitonematoides associados às culturas e também na determinação da sua disseminação e distribuição em uma determinada região. Este conhecimento possibilita iniciar estudos da biologia e da ecologia desses organismos, além de ser essencial para a adoção de medidas de controle antes que os patógenos atinjam o nível de dano econômico (Carneiro *et al.*, 2008).

Para Oliveira (2007), os nematoides são organismos muito difíceis de serem caracterizados, devido ao seu pequeno tamanho e/ou pela dificuldade de observação da morfologia de suas características peculiares que são importantes para diagnosticá-los com o uso do microscópio de luz convencional.

Segundo Silva *et al.* (2014), os resultados de levantamentos populacionais da fauna nematológica para identificação de *Meloidogyne* spp. até o ano 2000 no Brasil eram baseados na configuração perineal das fêmeas. Essa ferramenta foi muito útil, mas, com o aumento do número de espécies, a identificação feita com base apenas nesta característica morfológica pode ocasionar interpretação equivocada, em razão de ser um método muito subjetivo, que depende da experiência do nematologista na área de taxonomia e no Brasil existem poucos nematologistas especializados na identificação das espécies deste gênero.

Os aspectos da morfologia, como a forma da região perineal da fêmea, o tamanho e a forma do estilete, a região dos lábios dos machos, associados à caracterização bioquímica por meio de fenótipos de isoenzimas e técnicas moleculares, até as plantas hospedeiras são essenciais para uma identificação precisa das espécies do gênero *Meloidogyne* (Pinheiro *et al.*, 2014b).

Com o desenvolvimento de novas ferramentas de identificação, há um consenso na comunidade científica sobre a necessidade de utilização de técnicas mais objetivas e mais precisas para a exata distinção das espécies do gênero *Meloidogyne* (Silva *et al.*, 2014).

Alonso & Alfenas (2006) argumentam que essas questões têm sido subsidiadas com o uso de técnicas como a eletroforese de proteínas totais e de isoenzimas, sorologia e análise de DNA como parâmetro para a taxonomia clássica, que se baseia nas características morfológicas convencionais.

De acordo com Dantas & Nodari (2008), Michaelis criou o termo ‘eletroforese’ em 1909, para fazer a descrição do método de deslocamento de colóides sob a atuação de um campo elétrico, ou seja, moléculas com carga negativa deslocam para o polo positivo, e as com carga positiva deslocam para o polo negativo. A eletroforese tem por objetivo separar as moléculas conforme suas cargas elétricas, seus pesos moleculares e suas conformações, em géis porosos e soluções tampões que proporcionam uma estabilidade ao pH do meio permitindo a movimentação contínua de corrente elétrica. Enfim, a técnica eletroforética consta da extração de amostras, proteínas, enzimas ou até mesmo DNA adquirido de uma porção de tecido vegetal ou animal e da movimentação destas num gel específico (amido, agarose, acrilamida) sujeito a uma corrente elétrica contínua.

A aplicação da técnica de isoenzimas permite identificar rapidamente com eficiência e segurança as espécies mais frequentes dos nematoides das galhas, podendo

ser utilizada no dia a dia nos laboratórios de análise nematológica. Esta técnica possibilita detectar espécies atípicas, fazer levantamentos das espécies ocorrentes em nível de campo e determinar a frequência e distribuição relativa das diversas espécies, além de descobrir populações em misturas e possibilitar a purificação de populações antes da condução de estudos de resistência de plantas, ou mesmo, a especificidade de hospedeiros (Carneiro & Almeida, 2001).

Segundo Dickson *et al.* (1971), nos estudos iniciais com enzimas de nematoides utilizava-se extratos onde eram misturados diversos indivíduos. Algum tempo depois os procedimentos mudaram e outra técnica foi desenvolvida, permitindo a extração e eletroforese de enzimas e proteínas de indivíduos separados (Dalmaso & Bergé, 1978).

Em seu trabalho Janati *et al.* (1982) argumentam que alguns fenótipos de esterase foram determinados como sendo específicos, e receberam atribuições que passaram a representar determinadas espécies. Depois disso, mais de 300 populações vindas de muitos países foram pesquisadas, reforçando a viabilidade do uso das esterases como sendo as enzimas mais apropriadas para caracterização das espécies e as malato desidrogenases, auxiliares na diferenciação de espécies, cujas esterases são iguais, como é o caso de *M. naasi* e *M. exigua*. Trabalhos de caracterização de populações de *Meloidogyne* spp. quanto aos perfis enzimáticos também foram realizados na África e em Portugal (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990; 1985; Farguette, 1987; Pais, 1989).

Desse modo, frente às dificuldades encontradas com a utilização da configuração perineal em trabalhos de diagnose, o uso da eletroforese de isoenzimas vem sendo proposto como o mais adequado em estudos de levantamento de *Meloidogyne* spp., pois é uma técnica para caracterização de nematoides das galhas a nível específico que pode ser realizada no cotidiano em laboratórios de nematologia com segurança, praticidade e economia, podendo ser realizada por meio de fenótipos enzimáticos obtidos através de eletroforese em géis de poliacrilamida (Carneiro & Almeida, 2001).

Pela técnica de amplificação de DNA por PCR, que é a reação em cadeia da polimerase, obtiveram-se resultados melhores da separação interespecífica e novos métodos de diagnóstico foram propostos, como a amplificação de regiões de DNA mitocondrial ou ribossômico (Power & Harris, 1993).

Enfim, não existem muitas pesquisas visando determinar a ocorrência e a identificação de fitonematoídeos em hortaliças. No Estado de Goiás, estes estudos são ainda mais escassos. Portanto, este estudo visou gerar informações da ocorrência e

distribuição dos principais gêneros ocorrentes de nematoides fitopatógenos em hortaliças no Estado de Goiás.

OBJETIVOS

- Foram identificados morfologicamente gêneros de fitonematóides que ocorrem na região Sul do Estado de Goiás e que parasitam as hortaliças;
- Caracterizaram-se bioquimicamente as espécies de *Meloidogyne* em áreas produtoras de hortaliças na região Sul do Estado de Goiás, por meio de eletroforese de isoenzimas;
- Foram apresentadas informações da ocorrência e distribuição de fitonematóides do gênero *Meloidogyne* em hortaliças na região Sul do Estado de Goiás.

REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCSEM - Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas. 2012, 06 de abril. *Projeto para o levantamento dos dados socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil*. Disponível em <http://www.abcsem.com.br/>
- ALONSO SK; ALFENAS AC. 2006. Isoenzimas na taxonomia e na genética de nematoides fitopatogênicos. In: ALFENAS, AC (Ed.). *Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos*. Viçosa: Editora UFV, p. 525-543.
- CAMPOS VP. 1985. Doenças causadas por nematoides. *Informe Agropecuário*, 11(122): 21-28.
- CAMPOS VP; SIVAPALAN P; GNANAPRAGASAM NC. 1990. Nematode parasites of coffee, cocoa and tea. In: Luc M., Sikora R.A., Brigde J. (Eds) *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. Wallingford Uk. CAB International, p. 387-430.
- CARNEIRO MDG; ALMEIDA MRA. 2001. Técnica de Eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. *Nematologia Brasileira* 25(1): 35-44.
- CARNEIRO RMDG; CARNEIRO RG; NEVES DIN; ALMEIDA MRA. 2003. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pintoi* no estado do Paraná. *Nematologia Brasileira* 27(2): 219-221.
- CARNEIRO RMDG, ALMEIDA MRA; MARTINS I; SOUZA JF; PIRES AQ; TIGAMO MS. 2008. Ocorrência de *Meloidogyne* spp. e fungos nematófagos em hortaliças no Distrito Federal, Brasil. *Nematologia Brasileira*, 32 (2): 135-141.
- CASTAGNONE-SERENO P. 2002. Genetic variability in parthenogenetic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., and their ability to overcome plant resistance genes. *Nematology*, Leiden, 4 (5): 605-608.
- CEASA-GO – Centrais de Abastecimento de Goiás S/A. 2016. *Análise conjuntural*. Disponível em: <http://www.ceasa.goias.gov.br/>>. Acesso em 27 de janeiro de 2016.
- DALMASSO A; BERGE JB. 1978. Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in some *Meloidogyne* spp.: Application to the taxonomy of *Meloidogyne*. *Journal of Nematology* 10 (14): 323-332.

- DANTAS ACM; NODARI RO. Marcadores genéticos. Florianópolis: UFSC, CCA. 2008. Notas de aula. Maio. Disponível em: <http://www.cca.ufsc.br/lfdgv/MARCADORESMOLECULARES2.pdf>. Acesso em: 5 de janeiro de 2015.
- DICKSON DW; HUISINGH D; SASSER.1971. Dehydrogenases, acid and alkaline phosphatases and esterases for chemotaxonomy of selected *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Heterodera* and *Aphelenchus* spp. *Journal of Nematology* 3(1): 1-16.
- EISENBACK JD; TRIANTAPHYLLOU HH. 1991. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. In: NICKLE, W. R (Eds). *Manual of agricultural nematology*. New York: USA, p. 191-274.
- ESBENSHADE PR; TRIANTAPHYLLOU AC. 1985. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematodo: Tylenchida) *Journal of Nematology* 17(1): 6-20.
- ESBENSHADE PR; TRIANTAPHYLLOU AC. 1990. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. *Jornal of Nematology* 22(1): 10-15.
- FARGETTE M.1987. Use of the esterase phenotype in the taxonomy of the genus *Meloidogyne*. 2 – Esterase phenotype observed in west African populations and their characterization. *Revue Nematologie* 10(1): 45-46.
- FERRAZ LCCB. 2001. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, JFV (Org.). *Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja*. Londrina: EMBRAPA Soja; *Sociedade Brasileira de Nematologia*. p. 15-38.
- FERRAZ S; FREITAS LG de; LOPES EA; DIAS-ARIEIRA CR. 2010. *Manejo Sustentável de Fitonematoides*. Viçosa, MG. Editora UFV, 306 p.
- FILGUEIRA, FAR. 2007. *Novo manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. Viçosa, MG. Ed. UFV. 421p.
- FRAGOSO RR. 2006. *Prospecção de moléculas-alvo para intervenção da interação planta-praga*. Universidade de Brasília – UnB. Instituto de Ciências Biológicas – IB. Brasília, 171p (Tese de doutorado).
- GOODEY JB; FRANKLIN MT; HOOPER DJ. 1965. The nematode parasites of plant catalogued under their hosts. *Farnham Royal, UK: CAB*. 214 p.
- HUANG CS. 1985. Formation, anatomy and physiology of giant cells induced by root-knot nematodes. In: SASSER J N; CARTER CC. (Eds.). *An advanced treatise on Meloidogyne: biology and Control*. Raleigh: North Carolina State University Graphics, p. 155-164.
- HUANG SP. 1992. *Nematoides que atacam olerícolas e seu controle*. Informe Agropecuário 16 (172): 31-36.

- JANATI AA; BERGÉ A; TRIANTAPHYLLOU A.C. e DALMASSO A.1982. Nouvelles données sur l'utilisation des isoestérases pour l'identification des *Meloidogyne*. *Revue de nematologie* 5(1): 147-154.
- KARSSSEN G; MOENS M. Root-knot nematodes. 2006. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Eds.). *Plant nematology*. Wallingford, UK: CAB International. p. 59-90.
- KOENNING SR; OVERSTREET C; NOLING JW, DONALD PA; BECKER JO, FORTNUM BA. 1999. Survey of crop losses in response to phytoparasitic nematodes in the United States for 1994. *Journal of Nematology* 31(4S): 587-618.
- KUROZAWA C; PAVAN MA. 2005. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). In: KIMATI, H. et al. (Eds.) *Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. São Paulo: Ceres. p.607-626.
- MALUF WR. 1997. Resistência a nematoides das galhas *Meloidogyne* spp. em espécies olerícolas. In: ZAMBOLIN L; RIBEIRO-DO-VALE FX. (eds.). Resistência de Plantas a Doenças. *Fitopatologia Brasileira* 30(1): 57-63.
- MOENS M; PERRY RN; STARR JL. 2009. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. (eds.). In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. Root-knot nematodes. Wallingford: CAB International. p. 1-17.
- OLIVEIRA CMG. 2007. Panorama das doenças e pragas em horticultura: doenças causadas por nematoides. *Biológico* 69(1): 85-86
- ORNAT C; SORRIBAS FJ. 2008. Integrated management of root-knot nematodes in: mediterranean horticultural crops. In: CIANCIO, A.; MUKERJI, K.G. Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes. *Dordrecht: Springer*. p. 259-312.
- PAIS CS; ABRANTES O. 1989. Esterase and malate dehydrogenase phenotypes in Portuguese populations of *Meloidogyne* species. *Jornal of Nematology*. 21(3): 342-346.
- PIMENTA CAM.; CARNEIRO RMDG. 2005. Utilização *Pasteuria penetrans* em controle biológico de *Meloidogyne javanica* em duas culturas sucessivas de alface e tomate. Brasília, DF: EMBRAPA, Recursos Genéticos e Biotecnologia. 36 p. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1676 – 1340; 116).
- PINHEIRO JB; BOITEUX LS; LOPES CA; SILVA O. 2009. Identificação de fontes de resistência ao nematoide *Meloidogyne mayaguensis* em acessos de tomateiro (*Solanum* secção *Lycopersicon*). Brasília: Embrapa Hortaliças. 18 p. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Hortaliças; 56).
- PINHEIRO JB; CARVALHO ADF; RODRIGUES CS. 2014a. Nematoides na cultura do alho e cebola. *Circular Técnica 130*. Embrapa. Brasília, DF.

- PINHEIRO JB; PEREIRA RB; SUINAGA FA. 2014b. Manejo de nematoides na cultura do tomate. *Circular Técnica 132*. Embrapa. Brasília, DF.
- POWER TO; HARRIS TS. 1993. A polymerase chain reaction method for identification of five major *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology*, Lakeland, 25 (1): 1-6.
- RAMMAH A; HIRSCHAMANN H. 1990. Morphological comparison of three host races of *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology* 22(1): 56-68.
- ROBERTSON L; DÍEZ-ROJO MA; LÓPEZ-PÉREZ JA, PIEDRA BUENA A; ESCUER M; LÓPEZ CEPERO J; MARTÍNEZ C; BELLO A. 2009. New host races of *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, and *M. javanica*. The American Phytopathological Society. *Plant Disease* 93(2): 180-184
- ROSA JMO; WESTERICH JN; WILCKEN SR. 2013. Reprodução de *Meloidogyne javanica* em olerícolas e em plantas utilizadas na adubação verde. *Tropical Plant Pathology* 38(2):133-141.
- SANTOS HS. 1995. *Efeitos de sistemas de manejo do solo e de métodos de plantio na produção de alface (Lactuca sativa L.) em abrigo com solo naturalmente infestado com Meloidogyne javanica*. 88p. Universidade Federal de Lavras, Lavras. (Tese Doutorado).
- SASSER JN; FRECKMAN DW.1987. *A world perspective on nematology: the role of society*. In: VEECH AJ; DICKSON WD. (ed.) *Vistas on nematology*. DeLeon Springs: Society of Nematologists, p.7-14.
- SILVA JCP DA; TERRA WC; FREIRE ES; CAMPOS VP; CASTRO JMCDA. 2014. *Aspectos gerais e manejo de Meloidogyne enterolobii*. In: *Sanidade de Raízes / NEFIT – Núcleo de estudos em Fitopatologia – 1ª edição – São Carlos, SP Suprema Grafia e Editora, p. 59-77*.
- SHCUMACHER PV; MOTA JH. 2011. Produção de hortaliças no Estado de Goiás. XV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e XI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba Universidade Federal de Goiás – *Campus Jataí*. Jataí-GO. Novembro. Disponível em: <http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2011/anais/arquivos/RE_0055_0533_03.pdf>.
- WILCKEN SRS; GARCIA MJDM; SILVA N. 2005. Resistência de alface do tipo americana a *Meloidogyne incognita* raça 2. *Nematologia Agrícola* 29 (2): 267-271.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40

CAPÍTULO I

NEMATOIDES ASSOCIADOS A HORTALIÇAS E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE ESPÉCIES DE NEMATOIDES DAS GALHAS EM ÁREAS PRODUTORAS DE HORTALIÇAS NO SUL DE GOIÁS

(Norma de acordo com a revista Horticultura Brasileira)

RESUMO

O sistema intensivo de cultivo de hortaliças, com pouca rotação de culturas e irrigação constante, favorece o aparecimento de problemas fitossanitários, com destaque para os causados por fitonematoides. No presente trabalho objetivou-se realizar um levantamento nematológico e a caracterização bioquímica de nematoides das galhas que ocorrem em áreas de cultivo de hortaliças na região Sul do Estado de Goiás. O estudo nematológico foi realizado em 39 propriedades (68 amostras), numa área total de 62,1 hectares, durante o período de 2013 a 2015, em 13 municípios: Morrinhos, Piracanjuba, Goiatuba, Pontalina, Caldas Novas, Joviânia, Itumbiara, Água Limpa, Corumbá, Bom Jesus de Goiás, Buriti Alegre, Rio Quente e Marzagão. Em cada propriedade foram amostradas diferentes áreas de cultivos com hortaliças, retirando várias subamostras de solo e raízes para compor uma amostra composta. Nas amostras infectadas com os nematoides das galhas foi realizada a caracterização bioquímica das espécies, por meio do fenótipo de esterase das fêmeas contidas nas raízes com galhas. Das amostras coletadas foram extraídos nematoides do solo e das raízes e estes foram transferidos para uma lâmina biológica e analisados em microscópio de luz. A identificação dos gêneros foi realizada com auxílio da chave de identificação de fitonematoides. Em todas as amostras foram encontrados nematoides de vida livre e em 33 amostras foram encontrados nematoides fitoparasitas. Os principais gêneros encontrados foram *Meloidogyne* com 22%, *Helicotylenchus* com 19%, *Tylenchus* com 13%, *Tylenchulus* com 10%, *Ditylenchulus*, *Rotylenchulus* e *Xiphinema* com 6%,

41 *Pratylenchus*, *Hemicycliophora*, *Xiphidorus*, *Anguina*, *Tubixaba* e *Monotrichodorus*
42 com 3%. Das 68 amostras, 45 apresentaram-se infectadas com nematoide das galhas, o
43 que representou 66% delas. Das amostras com sintomas das galhas 49% foram
44 identificadas como *M.incognita*, 24% com *M. javanica* e 27% como *Meloidogyne* spp..
45 Aproximadamente 34% das amostras não estavam infectadas por nematoides das
46 galhas. Com base nos resultados, pode-se observar que a maior parte das áreas
47 cultivadas com hortaliças na região Sul do Estado de Goiás estão contaminadas com
48 fitonematoides, em especial *M. incognita*. O presente estudo contribuiu para o
49 conhecimento sobre a ocorrência e disseminação das espécies de *Meloidogyne* em áreas
50 cultivadas com hortaliças no Sul de Goiás. Além de subsidiar novos estudos, serve de
51 alerta aos horticultores e, possibilita definir manejos mais adequados e eficientes
52 visando diminuir as populações dos fitonematoides nas áreas infestadas.

53

54 **Palavras-chaves:** *Meloidogyne* spp.; levantamento; georreferenciamento.

55

56

57

58

ABSTRACT

59 The intensive system of growing vegetables, with little crop rotation and constant
60 irrigation, favors the onset of disease problems, especially those caused by nematode
61 galls. The present work aimed to carry out a survey and biochemical characterization of
62 nematode galls occurring in vegetable growing areas in the southern region of the State
63 of Goiás. The nematologic study was conducted in 39 properties (68 samples), a total
64 area of 62,1 hectares during the period 2013-2015 in 13 municipalities: Morrinhos,
65 Piracanjuba, Goiatuba, Pontalina, Caldas Novas, Joviânia, Itumbiara, Água Limpa,
66 Corumbáiba, Bom Jesus de Goiás, Buriti Alegre, Rio Quente and Marzagão. In each
67 property were sampled different areas of crops with vegetables, removing several sub-
68 samples to compose a sample of soil and roots. In samples with symptoms of infection
69 with the nematode galls was conducted to characterize the species by biochemical
70 analysis through the esterase phenotype of females contained in the roots with galls.
71 The samples were extracted from the soil nematode or roots and with the same
72 suspension transferred to a slide and analyzed by light microscopy. The identification of
73 gender was made with the help of nematode identification key. In all samples were
74 found free-living nematodes and 33 samples were found phytoparasitic nematodes. The

75 major genres were found *Meloidogyne* with 22%, *Helicotylenchus* with 19%, *Tylenchus*
76 with 13%, *Tylenchulus* with 10%, *Ditylenchulus*, *Rotylenchulus* and *Xiphinema* with
77 6%, *Pratylenchus*, *Hemicycliophora*, *Xiphidorus*, *Anguina*, *Tubixaba* and
78 *Monotrichodoros* with 3%. Of the 68 samples, 45 showed to be infected with root-knot
79 nematode, which represented 66 % of them. Samples with symptoms of galls 49% were
80 identified as *M. incognita*, *M. javanica* 24% and 27% as *Meloidogyne* spp..
81 Approximately 34 % of the samples were not infected by root-knot nematodes. Based
82 on the results, it can be observed that most of the areas cultivated with vegetables in the
83 southern region of the State of Goiás, are infected with nematodes, particularly *M.*
84 *incognita*. This study contributed to the knowledge of the occurrence and spread of
85 *Meloidogyne* species that occur in areas cultivated with vegetables in southern Goiás. In
86 addition to subsidizing new studies, service alert to horticulturists and allows you to
87 define most suitable and efficient management strategies aimed at reducing the
88 populations of nematodes in the infested areas.

89

90 **Keywords:** *Meloidogyne* spp.; survey; georeferencing.

91

92

93 1. INTRODUÇÃO

94

95 As perdas anuais causadas por fitonematoides em hortaliças são estimadas em
96 12%, o que faz deste grupo de patógenos um sério problema para o seu cultivo (Carboni
97 & Mazzonetto, 2013).

98 Em áreas produtoras de hortaliças, normalmente é observada a prática de
99 monocultivos irrigados e o uso intensivo do solo durante o ano todo. Este manejo
100 favorece a proliferação de fitonematoides, que promovem danos às plantas e,
101 conseqüentemente, causam perdas na produtividade. Entre os fitonematoides, os
102 formadores das galhas radiculares do gênero *Meloidogyne*, são os que causam mais
103 danos à agricultura, incluindo as espécies de *M. incognita* e *M. javanica*, reconhecidas
104 como altamente prejudiciais à agricultura, com notável distribuição geográfica (Rosa,
105 2010).

106 Os danos causados pelos nematoides do gênero *Meloidogyne* são conseqüências
107 do seu parasitismo em órgãos subterrâneos das hortaliças. Ao penetrarem no hospedeiro
108 e movimentarem-se nos tecidos, rompendo células para se alimentarem dos conteúdos

109 celulares, desviam para sua nutrição os elementos destinados à nutrição da planta; além
110 disso, danos podem ainda advir da ação tóxica de substâncias introduzidas por eles.
111 Essas substâncias destroem células, induzem formação de galhas e transformam células
112 normais em células nutridoras (Oliveira, 2007).

113 Segundo Sgrignoli (2014), em pesquisa sobre a ocorrência de fitopatógenos
114 realizados em hortas do município de Marília, no Estado de São Paulo, foi demonstrado
115 que os fitonematoides foram os patógenos de maior importância por eles viverem no
116 solo, dificultando o seu manejo e/ou seu controle. Em levantamento de espécies de
117 fitonematoides em áreas produtoras de hortaliças nos Estados de São Paulo, Minas
118 Gerais e Mato Grosso foi observado que, entre as principais espécies mais ocorrentes,
119 estão a *M. incognita* e a *M. javanica* e *M. enterolobii*, e que estas espécies são
120 encontradas juntas e/ou separadas, causando prejuízos às olerícolas (Rosa *et al.*, 2013).

121 Em trabalho realizado por Carneiro *et al.* (2008), visando à identificação das
122 principais espécies de *Meloidogyne* ocorrentes, foram coletadas amostras de raízes e
123 solo de hortaliças infectadas, em diferentes núcleos rurais do Distrito Federal, e nestas
124 foram identificadas populações de *M. javanica*, *M. incognita*; houve, inclusive,
125 amostras com a ocorrência concomitante das duas espécies.

126 Segundo Nazareno *et al.*, (2009) os nematoides das galhas constituem-se num
127 dos grandes problemas para a agricultura brasileira, por diminuírem a produtividade e a
128 qualidade dos produtos no caso das hortaliças, causando perdas econômicas
129 significativas e, conseqüentemente, diminuindo a rentabilidade dos horticultores. As
130 espécies *M. incognita* e *M. javanica* podem ser encontradas juntas ou separadas, muitas
131 vezes causando danos e, conseqüentemente, prejuízos econômicos a diversas hortaliças;
132 entre as mais suscetíveis estão o quiabo, a berinjela, o tomate, a abóbora, a batata, a
133 alface, o brócolis, a cebolas, a cenoura, a couve-flor e a batata-doce, entre outras
134 (Huang, 1992; Koenning *et al.*, 1999).

135 As informações obtidas em levantamentos populacionais são importantes para se
136 conhecer os nematoides associados às culturas, e contribuem para o conhecimento da
137 distribuição dos mesmos em uma determinada região estudada, o que possibilita a
138 realização de estudos sobre a biologia, a ecologia e os métodos de controle de
139 fitonematoides (Rosa *et al.*, 2013).

140 Segundo Pimenta & Carneiro (2005), as técnicas de manejo - rotação de cultura,
141 alqueive, pousio, entre outras - são formas viáveis para redução das populações de *M.*
142 *incognita* e *M. javanica* a níveis mais baixos que os de dano econômico, sem causar

143 prejuízos para o meio ambiente. Portanto, faz-se necessário conhecer bem a ocorrência,
 144 e a distribuição dos fitonematoides. A maneira mais eficiente é por meio da realização
 145 de levantamento da fauna nematológica.

146 São poucas pesquisas realizadas visando determinar a ocorrência e a
 147 identificação de fitonematoides que ocorrem em hortaliças. No Estado de Goiás, são
 148 ainda mais escassos. Portanto, este estudo visou gerar informações da ocorrência e
 149 distribuição dos principais gêneros de nematoides fitopatogênicos, em hortaliças na
 150 região Sul do Estado de Goiás.

151 Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo realizar um
 152 levantamento nematológico e caracterizar bioquimicamente as espécies de *Meloidogyne*
 153 frequentes em áreas de cultivo de hortaliças na região Sul do Estado de Goiás.

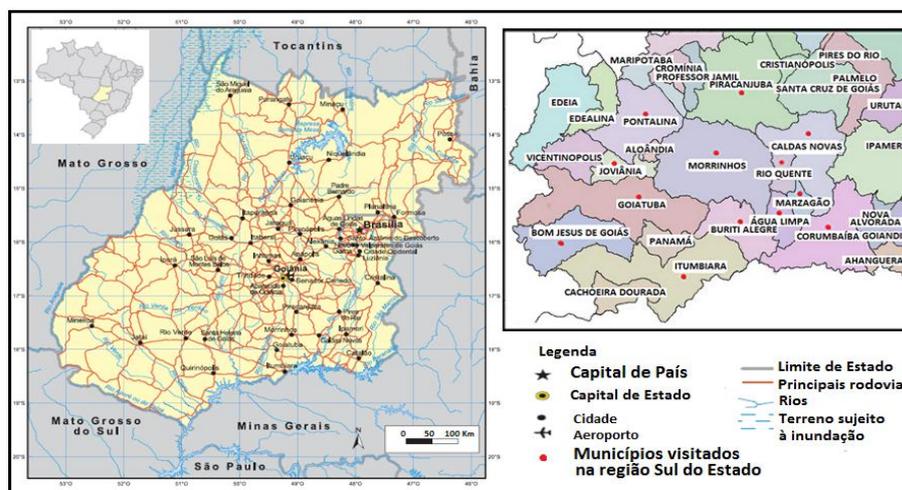
154

155

156 2. MATERIAL E MÉTODOS

157

158 O levantamento foi realizado nos anos de 2013 a 2015. As amostras foram
 159 coletadas com base nos cadastros disponibilizados pela EMATER/GO em 39 áreas
 160 produtoras de hortaliças, totalizando 68 amostras coletadas na região Sul do Estado de
 161 Goiás. Estas estavam distribuídas nos seguintes municípios: 30 amostras em Morrinhos,
 162 7 em Piracanjuba, 4 em Joviânia, 6 em Goiatuba, 6 em Pontalina, 3 em Caldas Novas, 2
 163 em Corumbaíba, 2 em Água Limpa, 2 em Rio Quente, 2 em Bom Jesus de Goiás, 2 em
 164 Itumbiara, 1 em Marzagão e 1 em Buriti Alegre (Figura 1).



165

166

167

168

Figura 1 – Mapa de Goiás exibindo a localização dos municípios da região Sul onde foi realizado as coletas de amostras de solo e raízes em áreas de cultivo de hortaliças para análises nematológicas no triênio 2013 a 2015. (IBGE, 2015).

169 Em cada propriedade foram coletadas amostras em diferentes sistemas de
170 cultivos, incluindo canteiros, estufas e área de campo. As amostras foram constituídas
171 de 500 g de solo e 100 g de raízes, e para obter cada amostra composta foram coletadas
172 quinze subamostras de solo e raízes a profundidade de 20-25 cm próximo à rizosfera
173 das plantas. Em cada área produtora foi registrada as coordenadas geográficas com a
174 utilização de um aparelho com Sistema de Posicionamento Global (GPS) da marca
175 GARMIN modelo 60 CSx, para localização de cada ponto de coleta nas propriedades
176 produtoras de hortaliças (Tabela 1). As amostras coletadas foram identificadas por meio
177 de uma ficha elaborada para esta finalidade (Apêndice A) e acondicionadas em caixa de
178 isopor e, posteriormente, armazenadas em geladeira à temperatura de 8 °C até envio ao
179 laboratório para análises.

180 Parte das amostras de raízes com sintomas de galhas foi encaminhada ao
181 Laboratório de Nematologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA) ou ao
182 Laboratório de Nematologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), para a
183 caracterização das espécies por meio da técnica de eletroforese de isoenzimas, fenótipo
184 de esterase.

185 Uma parte de cada amostra de solo foi acondicionada em vasos de polietileno de
186 500 mL, com planta hospedeira de tomateiro ‘Santa Cruz’ para multiplicação das
187 possíveis espécies de *Meloidogyne* presentes na amostra. Após 60 dias de cultivo, as
188 plantas com as raízes infectadas foram enviadas para realização de análise bioquímica
189 nos referidos laboratórios.

190 Foi utilizado o método de Boneti & Ferraz (1981) para extração de ovos de
191 *Meloidogyne* spp. das raízes com galhas com solução de hipoclorito de sódio a 0,5%.
192 Para a extração dos nematoides do solo, utilizou-se o método de flutuação e
193 centrifugação em solução de sacarose (Jenkins, 1964).

194 Após a extração dos nematoides do solo e das raízes, a suspensão contendo os
195 mesmos foi vertida em uma placa de Petri de vidro. Sob microscópio estereoscópico, os
196 nematoides foram pescados com auxílio de um estilete bem fino e transferidos para uma
197 lâmina e cobertos com lamínula. A seguir os mesmos foram analisados em microscópio
198 de luz. A identificação dos gêneros foi feita com auxílio da chave de identificação de
199 fitonematoides de plantas (Mai & Mullin, 1996).

200 A identificação e caracterização das espécies do gênero *Meloidogyne* foram
201 realizadas com base nos perfis das enzimas esterase (pela técnica de eletroforese vertical
202 em sistema descontínuo, conforme Ornstein (1964) e Davis (1964). Foram retiradas das

203 raízes com galhas, fêmeas no início de postura e com coloração branco-leitosa e
 204 colocadas em microtubos contendo 10 µL de solução extratora (Carneiro & Almeida,
 205 2001). Em parte dos tubos foi colocada uma fêmea para confirmar que não há mistura
 206 de espécies e em outra foram colocadas três fêmeas para reforçar o resultado do padrão
 207 da esterase no resultado da análise eletroforética. Após a maceração das mesmas, os
 208 extratos proteicos foram aplicados nas cavidades do gel de poliacrilamida para
 209 subsequente corrida eletroforética. A etapa de empilhamento foi conduzida a 80 V por
 210 15 min, seguida pela corrida de separação a 200 V por 35 min. A reação de revelação de
 211 esterase foi realizada conforme a metodologia descrita por Alfenas *et al.*(1991).

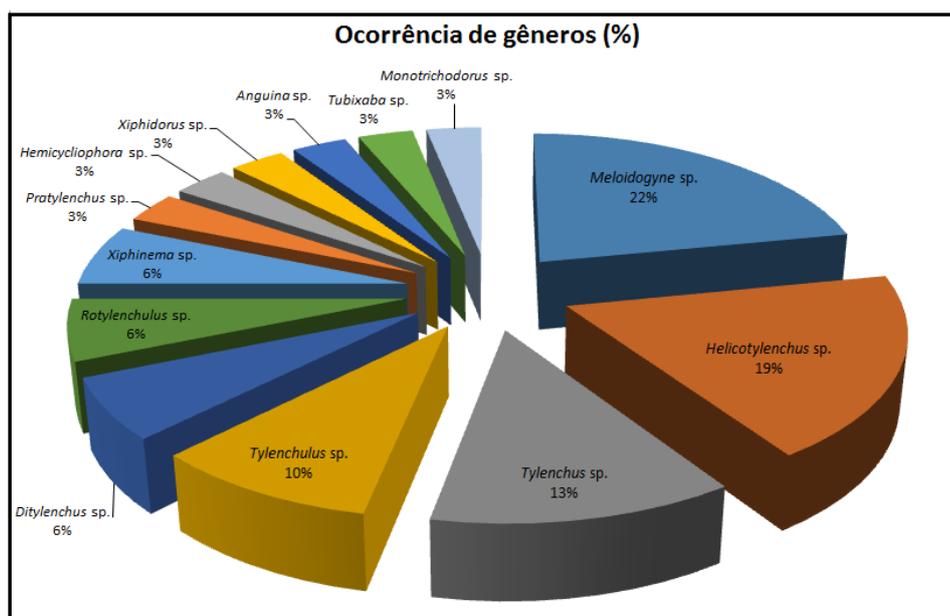
212

213

214 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

215

216 Em todas as amostras analisadas foram encontrados nematoides de vida livre que
 217 não infectam as plantas. Em 33 amostras analisadas das 68 amostras foram encontrados
 218 nematoides fitoparasitas. Os principais gêneros de nematoides encontrados nas amostras
 219 foram: *Meloidogyne* com 22%, *Helicotylenchus* com 19%, *Tylenchus* com 13%,
 220 *Tylenchulus* 10%, *Ditylenchulus*, *Rotylenchulus* e *Xiphinema* com 6%, *Pratylenchus*,
 221 *Hemicycliophora*, *Xiphidorus*, *Anguina*, *Tubixaba* e *Monotrichodoros* com 3% (Figura
 222 2).



223

224

225

Figura 2 – Ocorrência em percentual de gêneros de fitonematoides em áreas produtoras de hortaliças na região Sul do Estado de Goiás durante o levantamento no triênio 2013 a 2015.

226 Durante o levantamento dos gêneros encontrados em associação com as
 227 hortaliças, observou-se que os que mais causam danos a elas são o *Ditylenchus* sp. que
 228 provoca a podridão fétida dos bulbos e atacam alho e cebola e o *Pratylenchus* sp., que
 229 provoca lesões radiculares e infectam a batata, o inhame, a mandioquinha salsa, o
 230 pimentão, o tomate, o jiló e o quiabo e o gênero *Rotylenchulus*, que são semi-
 231 endoparasitos sedentários e as principais hortaliças hospedeiras são a abóbora, a batata-
 232 doce, o coentro, o melão, o quiabo e o tomate (Oliveira, 2007).

233 Foi realizada a caracterização bioquímica das amostras de raízes com sintomas
 234 das galhas dos 68 locais coletados nas 39 propriedades produtoras de hortaliças, com
 235 área total de 62,1 ha nos 13 municípios visitados na região Sul do Estado de Goiás
 236 (Ornstein, Davis 1964).

237 Das amostras coletadas, 45 apresentaram sintomas de galhas (Figura 3 A, B, C,
 238 D, E e F) e 23 não apresentaram sintomas das galhas nas raízes, (Figura 4 A e B, Tabela
 239 1).



240
 241
 242
 243

Figura 3 – Hortaliças exibindo sintomas de galhas nas raízes causadas por *Meloidogyne* spp.: (A) tomateiro, (B) alfaca, (C) cenoura, (D) mandioca, (E) abóbora, (F) quiabeiro. As amostras foram coletadas no triênio de 2013 a 2015, na região Sul do Estado de Goiás.

244 Tabela 1. Distribuição das populações de *Meloidogyne* spp. nas áreas produtoras de hortaliças dos
 245 municípios da região Sul do Estado de Goiás amostrados durante o triênio 2013 a 2015.

Ord.	Município	Propriedade	Área (ha)	Coordenadas Geográficas	Hortaliça	Nº amostra	Espécie		
							<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	<i>Meloidogyne</i> spp.
1	Morrinhos	IF Goiano	5,0	Lat.: 17° 49' 30,39" South Long.: 49° 11' 56,32" West	Alface	2	-	2	-
					Beterraba	1	-	1	-
					Berinjela	1	-	1	-
					Quiabo	1	-	-	-
2	Morrinhos	Bom Jardim das Flores	1,0	Lat.: 17° 35' 23,00" South Long.: 49° 04' 22,80" West	Repolho	1	-	-	-
					Alface	1	-	-	-
					Quiabo	1	-	-	-
					Jiló	1	-	-	-
3	Morrinhos	Vauzinho	4,0	Lat.: 17° 45' 03,00" South Long.: 49° 00' 02,50" West	Alface	1	1	-	-
					Quiabo	2	2	-	-
					Abóbora	1	1	-	-
					Pepino	1	1	-	-
4	Morrinhos	Vauzinho	3,0	Lat.: 17° 45' 41,80" South Long.: 48° 59' 41,70" West	Abóbora	1	1	-	-
					Pepino	1	1	-	-
					Jiló	1	1	-	-
5	Morrinhos	Vauzinho	2,4	Lat.: 17° 45' 21,80" South Long.: 49° 00' 35,40" West	Abóbora	1	-	-	-
					Mandioca	1	-	-	-
					Guaxuma	1	-	-	-
6	Morrinhos	Vauzinho	4,0	Lat.: 17° 45' 03,10" South Log.: 49° 00' 01,60" West	Abóbora	1	-	-	1
					Cara	1	-	-	-
7	Morrinhos	Vauzinho	2,0	Lat.: 17° 45' 14,50" South Long.: 49° 00' 28,10" West	Quiabo	1	-	1	-
					Jiló	1	-	1	-
8	Morrinhos	Vauzinho	4,0	Lat.: 17° 45' 21,70" South Long.: 49° 00' 35,30" West	Banana da Angola	1	-	-	-
9	Morrinhos	Vauzinho	2,0	Lat.: 17° 45' 15,60" South Long.: 49° 00' 19,60" West	Abóbora	1	-	-	-
10	Morrinhos	Vauzinho	1,0	Lat.: 17° 45' 17,50" South Long.: 48° 59' 49,80" West	Quiabo	1	-	1	-
11	Morrinhos	Vauzinho	1,0	Lat.: 17° 45' 41,80" South Long.: 48° 59' 41,70" West	Quiabo	1	1	-	-
12	Morrinhos	Vera Cruz	0,5	Lat.: 17° 38' 43,60" South Long.: 49° 09' 07,20" West	Alface	1	-	-	-
13	Morrinhos	Cordeiro	1,5	Lat.: 17° 44' 36,80" South Long.: 49° 08' 07,40" West	Quiabo	1	-	1	-
14	Piracanjuba	Pouso Alto	0,5	Lat.: 17° 18' 24,50" South Long.: 49° 02' 12,80" West	Quiabo	1	1	-	-
					Chuchu	1	1	-	-
					Couve	1	-	-	-
15	Piracanjuba	Horta do Aredes	0,2	Lat.: 17° 18' 21,80" South Long.: 49° 02' 08,80" West	Alface	1	-	-	1
16	Piracanjuba	Horta Municipal	1,0	Lat.: 17° 18' 27,94" South Long.: 49° 02' 15,24" West	Alface	1	-	-	-
					Vargem	1	-	-	-
17	Piracanjuba	Horta do Aredes	0,5	Lat.: 17° 18' 21,80" South Long.: 49° 02' 08,80" West	Alface	1	-	-	1
18	Joviânia	Horta Municipal	0,4	Lat.: 17° 48,6' 43,0" South Long.: 49° 36,7 25,0" West	Alface	1	1	-	-
					Cenoura	1	1	-	-
					Quiabo	1	1	-	-
					Mandioca	1	1	-	-
19	Goiatuba	Sta. Ponte Lavada	0,5	Lat.: 18° 00' 47,70" South Long.: 49° 21' 00,16" West	Chuchu	1	-	-	1
					Quiabo	1	1	-	-
20	Goiatuba	Bananeira	0,5	Lat.: 18° 00' 24,90" South Long.: 49° 21' 02,80" West	Abóbora	1	1	-	-
					Jiló	1	-	1	-
21	Goiatuba	Bananeira II	0,2	Lat.: 18° 00' 27,80" South Long.: 49° 21' 02,70" West	Quiabo	1	-	1	-
22	Goiatuba	Área urbana	0,1	Lat.: 18° 02' 50,05" South Long.: 49° 22' 19,05" West	Alface	1	-	-	1
					Alface	1	-	-	-
23	Pontalina	São Lourenço	2,0	Lat.: 17° 32' 01,30" South Long.: 49° 26' 34,60" West	Rabanete	1	-	-	-
					Repolho	1	-	-	-
					Alface	1	-	-	-
24	Pontalina	Horta do Marcos	0,5	Lat.: 17° 30' 27,10" South Long.: 49° 27' 06,40" West	Alface	1	-	-	1
					Quiabo	1	-	1	-
25	Pontalina	Vila Paraíso	0,1	Lat.: 17° 30' 50,70" South Log.: 49° 26' 42,20" West	Alface	1	-	-	-
26	Caldas Novas	Boa Vista	1,5	Lat.: 17° 47' 23,50" South Long.: 48° 36' 56,10" West	Alface	1	1	-	-
					Quiabo	1	1	-	-
27	Caldas Novas	Bocaina	4,0	Lat.: 17° 59' 10,40" South Long.: 48° 34' 36,90" West	Alface	1	-	-	1
28	Corumbamba	Horta do João	0,5	Lat.: 18° 08' 58,00" South Long.: 48° 33' 42,00" West	Alface	1	-	-	1
29	Corumbamba	Arrendido	0,3	Lat.: 18° 08' 13,00" South Long.: 48° 33' 30,00" West	Alface	1	-	-	1

30	Água Limpa	Bom Jardim	1,0	Lat.: 18° 08' 10,40" South Long.: 48° 47' 40,80" West	Alface	1	-	-	-
31	Água Limpa	Prefeitura Municipal	1,5	Lat.: 18° 03' 59,80" South Long.: 48° 45' 29,80" West	Pousio	1	-	-	-
32	Rio Quente	Água Quente	2,1	Lat.: 17° 38' 39,40" South Long.: 48° 45' 45,90" West	Jiló	1	1	-	-
33	Rio Quente	Água Quente	0,5	Lat.: 17° 48' 45,90" South Log.: 48° 46' 23,70" West	Alface	1	-	-	-
34	Bom Jesus de Goiás	Parque Agropéc.	4,0	Lat.: 18° 12' 39,50" South Long.: 49° 43' 24,60" West	Jiló	1	1	-	-
35	Bom Jesus de Goiás	Chácara Contorno	3,0	Lat.: 18° 12' 29,50" South Long.: 49° 43' 59,20" West	Alface	1	-	-	-
36	Itumbiara	Horta Trindade	1,0	Lat.: 18° 24' 35,60" South Long.: 49° 13' 25,60" West	Alface	1	-	-	1
37	Itumbiara	Horta Trindade II	1,5	Lat.: 18° 25' 21,40" South Long.: 49° 13' 58,80" West	Alface	1	-	-	1
38	Marzagão	Morone	2,0	Lat.: 17° 58' 42,40" South Long.: 48° 38' 09,80" West	Alface	1	-	-	1
39	Buriti Alegre	Chácara Balsamos	1,3	Lat.: 18° 08' 20,30" South Long.: 49° 02' 05,80" West	Tomate	1	1	-	-

246

247

248

249

250

251

252

253

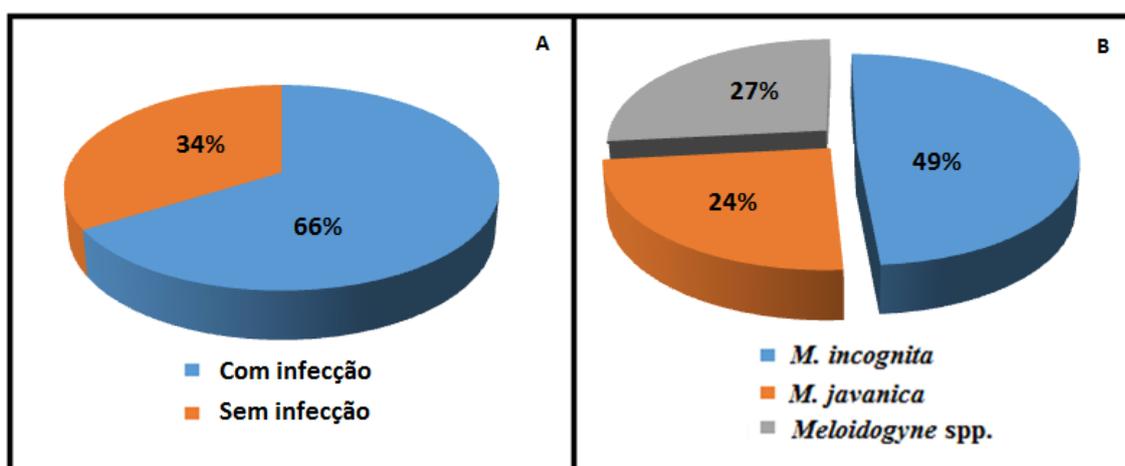
254

255

256

257

Após a realização das análises eletroforéticas por meio de isoenzimas de esterase das amostras de raízes com sintomas das galhas utilizando as fêmeas, foi observado, que a espécie *M. incognita* foi a mais frequente nas amostras coletadas, possivelmente devido à suscetibilidade das hortaliças acometidas a referida espécie, representando 49%, seguida da espécie *M. javanica*, que representou 24%. Não foi possível caracterizar especificamente cerca de 27% das amostras com sintomas de galhas, devido aos seguintes fatores: dificuldade na logística de coleta e envio de amostras de solo e raízes para análise, pois o procedimento é trabalhoso, demorado, oneroso e as raízes de hortaliças são muito perecíveis; falta de fêmeas de boa qualidade para repetição de análises eletroforéticas; além do mais, algumas amostras apresentaram fenótipos atípicos (Figuras 4 e 5, A e B).



258

259

260

261

262

Figura 4 – (A) Percentual de amostras infectadas com nematoides das galhas radiculares. (B) Percentual de *Meloidogyne* spp. nas amostras infectadas. Amostras oriundas de áreas produtoras de hortaliças da região Sul do Estado de Goiás coletadas no triênio 2013 a 2015.

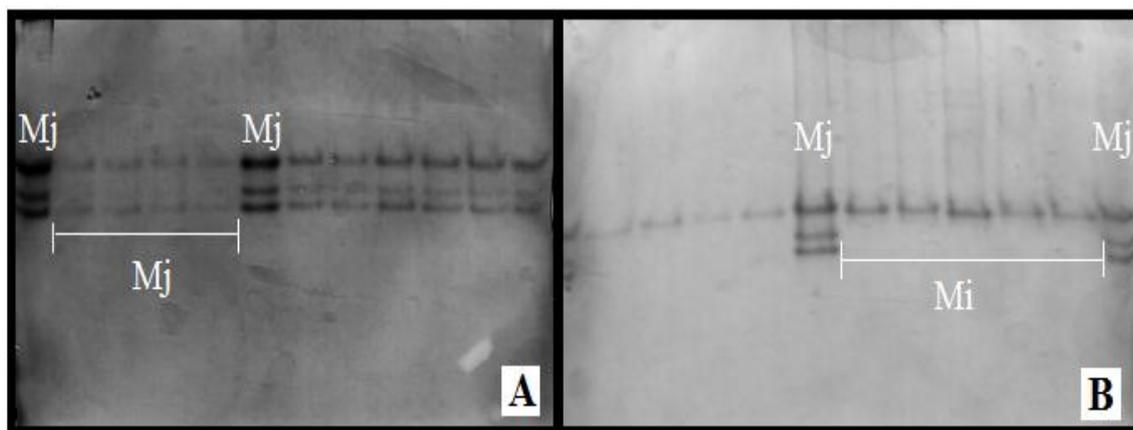


Figura 5 – Fenótipos de esterase de fêmeas extraídas de duas amostras de raízes de quiabeiro: (A) *Meloidogyne javanica* - Mj e (B) *Meloidogyne incognita* - Mi de amostras coletadas na região Sul do Estado de Goiás no triênio de 2013 a 2015.

263
264
265
266
267
268

Apesar da metodologia da técnica de eletroforese de isoenzimas ser muito eficaz, esta analisa a expressão de um único gene e se aplica apenas a fêmeas adultas e essas devem existir em número suficiente para realização das análises. Portanto, há interesse em desenvolver metodologias moleculares que permitam a identificação de nematoides em todas as fases de seu ciclo de vida, de modo a facilitar o processo (Carneiro *et al.*, 2005).

Uma técnica interessante é a utilização de fragmentos de DNA, a qual permite analisar muitos genes ao mesmo tempo e a identificação é estável em todas as fases do desenvolvimento do nematoide. O método da reação em cadeia de polimerase (PCR) é considerado uma excelente alternativa para essa caracterização, por ser uma prática confiável. Para realizar esse procedimento existem duas formas a serem utilizadas: uma é a seleção de marcadores do tipo SCAR e a outra é por meio da amplificação de um fragmento gênico espécie-específico (Carneiro *et al.*, 2005). No entanto, estes métodos exigem equipamentos e reagentes caros e primers específicos.

Conforme Taylor & Sasser (1978), no gênero *Meloidogyne*, as espécies *M. incognita* e *M. javanica* são consideradas as espécies que mais causam danos para as hortaliças; tal fato ocorre devido ao alto grau de polifagia e sua ampla distribuição geográfica. Isso ficou evidenciado no presente estudo, pois estas duas espécies foram as mais frequentes nas áreas amostradas cultivadas com hortaliças na região Sul do Estado de Goiás (Figuras 6 e 7).

287

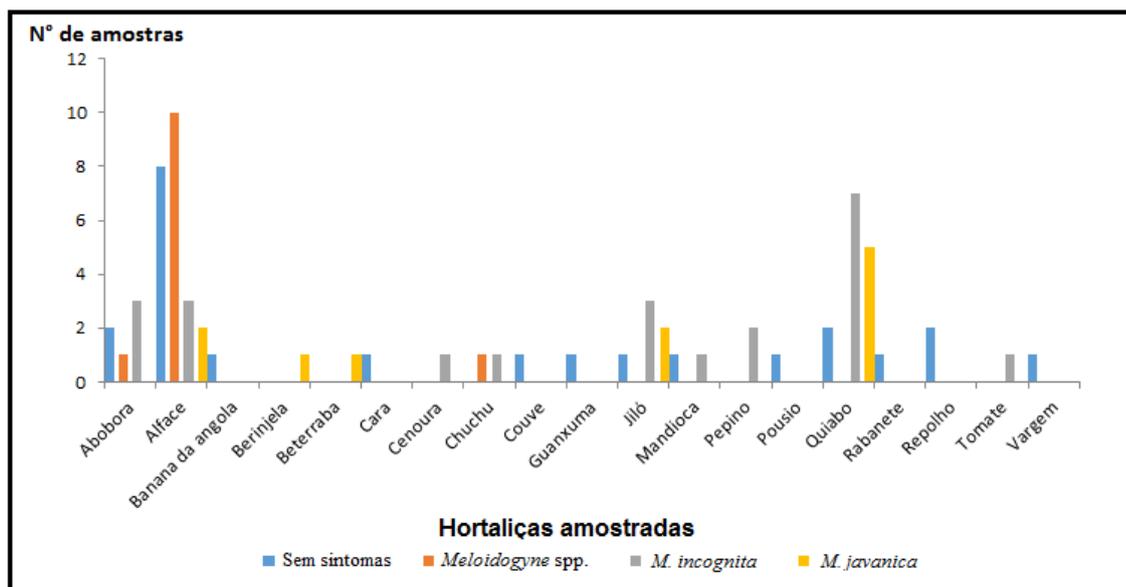


Figura 6 – Quantidade de amostras, infectadas ou não, com as espécies *M. incognita* e *M. javanica* e *Meloidogyne* spp., coletadas na região Sul do Estado de Goiás no triênio 2013-2015.

288
289
290
291
292

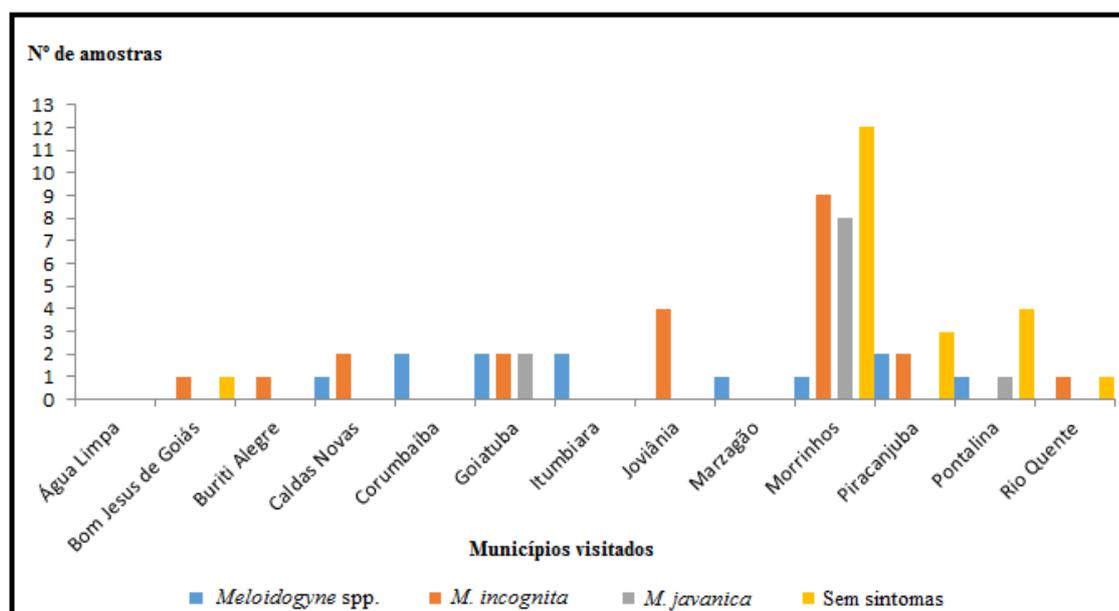


Figura 7 – Número de amostras coletadas em relação à ocorrência de fitonematoides por espécie de hortaliças, nos municípios na região Sul do Estado de Goiás no triênio 2013-2015.

293
294
295
296

297 Foi identificada a espécie *M. incognita* em 8 municípios na maioria das amostras
298 de hortaliças com infecção.

299 A espécie de *M. javanica* foi caracterizada nas culturas de alface, berinjela,
300 beterraba, quiabo e jiló, em áreas produtoras de hortaliças nos municípios de Morrinhos,
301 Goiatuba e Pontalina.

302 Nas culturas de abóbora, alface e chuchu foram encontradas populações de
303 *Meloidogyne* spp., nos municípios de Morrinhos, Piracanjuba, Goiatuba, Pontalina,
304 Caldas Novas, Corumbaíba, Itumbiara e Marzagão.

305 Vale ressaltar que das 23 amostras coletadas na cultura da alface, 15 se
306 apresentaram infectadas com os nematoides das galhas, 3 da espécie *M. incognita*, 2 *M.*
307 *javanica* e 10 *Meloidogyne* spp., essa hortaliça folhosa mostrou-se altamente suscetível
308 aos nematoides das galhas, o que evidencia a necessidade de realização de trabalhos
309 voltados ao melhoramento, para gerar novas cultivares de alface com resistência a este
310 fitonematoide.

311 Nas 14 amostras coletadas em plantas de quiabeiro, 7 apresentaram a espécie *M.*
312 *incognita*, 5 a espécie *M. javanica*, 2 *Meloidogyne* spp. e 2 não apresentaram sintomas.
313 Esse resultado permite inferir que o quiabeiro é bastante suscetível aos nematoides das
314 galhas.

315 Das amostras coletadas em cucurbitáceas, em duas, oriundas de plantas de
316 pepino foi encontrada a *M. incognita* e em outras quatro amostras coletadas em plantas
317 de abóbora, três foram *M. incognita* e uma *Meloidogyne* spp., também nas duas
318 amostras coletadas na cultura do chuchu, que é uma cucurbitácea perene ocorreram as
319 espécie *M. incognita* e *Meloidogyne* spp., demonstrando que as cucurbitáceas também
320 apresentaram ser susceptíveis a nematoides das galhas.

321 Na cultura da mandioca foram coletadas duas amostras, uma estava infectada
322 pelos nematoides das galhas, caracterizada como *M. incognita*, mostrando que tal
323 cultura também pode ser alvo de fitonematoides do gênero *Meloidogyne*. Na literatura,
324 praticamente não há relatos da cultura da mandioca sendo parasitada por *Meloidogyne*
325 spp.

326 Apesar da importância da cultura do tomate para a região Sul do Estado, no
327 decorrer deste levantamento foi realizada apenas uma coleta de amostra em tomateiro e
328 a espécie encontrada foi *M. incognita*.

329 Segundo Pinheiro *et al.*, (2010), no Brasil, os maiores problemas em hortaliças
330 folhosas, como a alface, geralmente ocorrem devido a infestação por nematoide das
331 galhas e os mais ocorrentes são *M. incognita* e *M. javanica* e, como visto anteriormente,
332 são as espécies que ocorreram com maior incidência na região onde foram coletadas
333 amostras de solo e raízes.

334 Maluf *et al.*, (2003) testaram alguns materiais que são importantes fontes de
335 resistência para *M. incognita*, visando obter cultivares de alface resistentes, em seus

336 trabalhos, ele obteve como cultivares resistentes a cressa repolhuda - Salinas 88, Lorca
337 e Legacy, juntamente com a cultivar de folhas soltas e crespas Grand Rapids.

338 Segundo Neves *et al.* (2011), a cultura da cenoura é muito susceptível à
339 infestação por nematoides, chegando a ocorrer perdas de até 100%, dependendo do
340 nível de infestação da área. No Brasil, os danos mais significativos causados por
341 fitonematoides são resultantes do ataque das espécies *M. incognita* e *M. javanica*. Os
342 nematoides do gênero *Meloidogyne*, especialmente o *M. incognita*, interferem no
343 crescimento da planta, causam amarelecimento nas folhas, e as cenouras apresentam
344 galhas típicas (Filgueira, 2007).

345 Para Filgueira (2007) o quiabeiro é uma das culturas bem afetadas pelo ataque
346 do *Meloidogyne* spp., que ocasiona formação de galhas nas raízes, além de mal
347 desenvolvimento das plantas. O quiabeiro tem a sua produção bastante influenciada por
348 danos devido a infecções causadas por nematoides das galhas e as espécies mais
349 ocorrentes desse gênero que atacam essa cultura já foram caracterizadas no Brasil, e
350 algumas chegam a causar morte da planta (Oliveira *et al.*, 2007)

351 Segundo Pinheiro *et al.*, (2013) as principais espécies de nematoide das galhas
352 de ocorrência na cultura do quiabeiro são *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M.*
353 *enterolobii* e o controle dessas espécies na cultura do quiabeiro é bastante difícil, pois
354 elas multiplicam-se muito rapidamente em condições favoráveis, como altas
355 temperaturas e umidade e coincidentemente, as condições climáticas favoráveis ao
356 quiabeiro também são favoráveis ao desenvolvimento dos nematoides.

357 No Brasil são raros os relatos de nematoides na cultura da mandioca. Em um dos
358 poucos trabalhos, Rosa *et al.*, (2014) verificaram que nematoides fitoparasitas foram
359 associados à mandioca na Amazônia brasileira, em cultivares de mandioca provenientes
360 do Amapá (Amazonas, Colônia Matapi, Manteiga, Pretinha e Pó-da-China) e cultivares
361 de mandioca Colonial e Caipora, provenientes do Acre, apresentaram reação suscetível
362 a *M. incognita* raça 3.

363 Conforme Filgueira (2007), devido às galhas formadas pelos nematoides das
364 espécies *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* as plantas ficam com baixo vigor, seu
365 crescimento torna-se retardado e, em caso de ataque com severidade, causa
366 amarelecimento e morte devido ao seu parasitismo, estes nematoides também
367 favorecem a penetração de patógenos na planta.

368 Outra espécie de nematoide das galhas que tem causado problemas em várias
369 culturas no Brasil e no mundo, inclusive na cultura do tomateiro é *Meloidogyne*

370 *enterolobii*. Ele apresenta rápida disseminação e tem sido encontrado parasitando
371 diversas hortaliças entre outras plantas (Pinheiro *et al.*, 2014). Apesar de não ter
372 diagnosticado esta espécie, isso não garante que esta não ocorra na região, uma vez que
373 a amostragem não engloba todas as propriedades produtoras de hortaliças. Além disso,
374 algumas amostras, em função de as fêmeas não encontrarem em condições ideais, ou
375 seja, branco leitosa para a análise bioquímica, não apresentaram bandas, perfis
376 enzimáticos que permitisse a sua correta identificação. Algumas destas populações estão
377 sendo multiplicadas para análises posteriores.

378 Durante o levantamento realizado foi observado que, onde ocorre um cultivo
379 intenso, monocultivos de hortaliças e uma movimentação do solo por equipamentos,
380 implementos e de ferramentas agrícolas, bem como de pessoas, principalmente em áreas
381 produtoras de hortaliças mais susceptíveis, há um aumento considerável nas populações
382 de fitonematoides.

383 Segundo Pinheiro *et al.* (2010), um fator agravante é que muitos dos cultivos de
384 olerícolas são realizados em regiões urbanas ou próximas a elas, principalmente de
385 folhosas, o que propicia um grande fluxo de pessoas, maquinários e animais e favorece
386 o agravamento do problema causado por fitonematoides.

387 Apesar de 12 diferentes gêneros de fitonematoides terem sido encontrados nas
388 amostras oriundas de áreas de cultivo de hortaliças na região, estes aparentemente não
389 estavam causando danos às hortaliças diferentemente das amostras onde estavam
390 presentes os nematoides das galhas do gênero *Meloidogyne*. Nestas as plantas
391 encontravam-se subdesenvolvidas, com folhas amareladas, sintomas típicos de
392 deficiência nutricional.

393 A correta identificação das espécies existentes no local propicia o conhecimento
394 sobre a sua ocorrência e auxilia na escolha de um melhor manejo, de modo a diminuir
395 as populações desse patógeno a níveis abaixo dos de dano econômico.

396

397

398 4. CONCLUSÃO

399

400 Os principais gêneros encontrados foram *Meloidogyne*, *Ditylenchus*,
401 *Pratylenchus* e *Rotylenchulus*.

402 A espécie *M. incognita* apresentou-se em 49% das amostras com sintomas de
403 galhas nas diversas hortaliças e em praticamente todos os municípios. A ocorrência da

404 espécie *M. javanica* foi detectada em cerca de 24% das amostras infectadas, as quais
 405 foram coletadas nos municípios de Morrinhos, Goiatuba e Pontalina e as culturas
 406 infectadas pela referida espécie foram alface, berinjela, beterraba, jiló e quiabo. Essas
 407 duas espécies de nematoides também são as mais disseminadas em todo o território
 408 nacional.

409 As espécies de nematoides das galhas do gênero *Meloidogyne*, estão bastante
 410 disseminadas nas áreas que cultivam hortaliças na região Sul do Estado de Goiás. Esta
 411 informação deve servir de alerta aos produtores de hortaliças, pois possibilita definir
 412 estratégias para minimizar a sua disseminação e definir manejos adequados e eficientes
 413 de modo a diminuir as populações dos fitonematoides nas áreas infestadas, além de
 414 fornecer subsídios para pesquisadores desenvolver novos estudos sobre manejo e
 415 controle desses patógenos mais eficientes, econômicos e sustentáveis.

416

417

418 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

419

420 ALFENAS AC; PETERS I; BRUNE W; PASSADOR GC. 1991. Eletroforese de
 421 proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa, MG, UFG, SIF,
 422 p. 242.

423

424 BONETI JIS; FERRAZ S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para
 425 extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. *Fitopatologia*
 426 *Brasileira* 6(3): 553.

427

428 CARBONI RZ; MAZZONETTO F. 2013. Efeito do extrato aquoso de diferentes
 429 espécies vegetais no manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro em
 430 ambiente protegido. *Revista Agrogeoambiental* 5: 2 caderno II, p.61-66

431

432 CARNEIRO, RMDG; ALMEIDA MRA. 2001. Técnica de Eletroforese usada no estudo
 433 de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. *Nematologia*
 434 *Brasileira* 25(1): 35-44.

435

436 CARNEIRO RMDG; RANDIG O; ALMEIDA MRA; GONÇALVES W. 2005.
 437 Identificação e Caracterização de Espécies de *Meloidogyne* em Cafeeiro nos
 438 Estados de São Paulo e Minas Gerais Através dos Fenótipos de Esterase e SCAR-
 439 Multiplex PCR. *Nematologia Brasileira* 29(2): 233-242.

440

441 CARNEIRO RMDG; ALMEIDA MRA; MARTINS I; SUZA JF; PIRES AQ; TIGANO
 442 MS. 2008. Ocorrência de *Meloidogyne* spp. e Fungos Nematófagos em Hortaliças
 443 no Distrito Federal, Brasil. *Nematologia Brasileira* 32(8): 135-141.

444

445 DAVIS, B.J.1964. Disc electrophoreses. II. Method end application to human serum
 446 proteins. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 121(1): 404-427.

- 447
448 FILGUEIRA FAR. 2007. Novo manual de Olericultura: *agrotecnologia moderna na*
449 *produção e comercialização de hortaliças*. Viçosa, MG. Ed. UFV. 421p.
450
- 451 HUANG SP. 1992. *Nematoides que atacam olerícolas e seu controle*. Informe
452 Agropecuário. 16:31-36.
453
- 454 JENKINS, WRA. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating
455 nematodes from soil. *Plant Disease Report* 48(1): 692.
456
- 457 KOENNING, S.R.; OVERSTREET, C.; NOLING, J.W., DONALD, P.A.; BECKER,
458 J.O., Fortnum, B.A. 1999. Survey of crop losses in response to phytoparasitic
459 nematodes in the United States for 1994. *Journal of Nematology* 31(4):587-618.
460
- 461 MAI, W.F.; MULLIN, P.G. 1996. Pictorial key to general of Plant Parasitic Nematodes.
462 *Ithaca*. NY: Cornell University Press. 277 p.
463
- 464 MALUF LEJ; OKADA AT; GOMES LAA; FIORINI CVA; MALUF WR; LICURSI
465 V. 2003. Reação de cultivares de alface à infecção por *Meloidogyne incognita*. In:
466 CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43. Recife. Anais. Recife:
467 UFRPE, 2003.
468
- 469 NAZARENO GG; JUNQUEIRA AMR; PEIXOTO JR. 2010. Utilização de matéria
470 orgânica para o controle de nematóides das galhas em alface sob cultivo
471 protegido. *Bioscience Journal*, 26(1): 579-590.
472
- 473 NEVES W dos S; LOPES EA; FERNANDES RH; DALLEMOLE-GIARETTA R;
474 PARREIRA DF. 2011. Nematoides na cultura da cenoura: sintomas, disseminação
475 e principais métodos de controle. *Circular Técnica nº 133*. EPAMIG.
476
- 477 OLIVEIRA RDL; SILVA MB; AGUIAR NDC; BÉRGAMO FLK; COSTA ASV;
478 PREZOTTI L. 2007. Nematofauna associada à cultura do quiabo na região leste
479 de Minas Gerais. *Horticultura Brasileira*. 25(1): 88-93.
480
- 481 OLIVEIRA CMG. 2007. Panorama das doenças e pragas em horticultura doenças
482 causadas por nematoides. *Biológico* 69(2): 85-86.
483
- 484 ORNSTEIN L. 1964. Disc electrophoresis. I. Background and Theory. *Ann New York*
485 *Acad Sci* 121(3): 21-349
486
- 487 PIMENTA CAM; CARNEIRO RMDG. 2005. Utilização *Pasteuria penetrans* em
488 *controle biológico de Meloidogyne javanica em duas culturas sucessivas de*
489 *alface e tomate*. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 116. Brasília, DF, 36 p.
490
- 491 PINHEIRO JB; AMARO GB; PEREIRA RB. 2010. Ocorrência e controle de
492 nematoides em hortaliças folhosas. *Circular técnica* 89, Embrapa Hortaliças,
493 Brasília, DF, 10 p.
494

- 495 PINHEIRO JBP; PEREIRA RB; CARVALHO DF; RODRIGUES CS. 2013. Manejo de
496 nematoides na cultura do quiabeiro. *Circular Técnica* 127, EMBRAPA. Brasília,
497 DF. 7 p.
498
- 499 PINHEIRO JB; PEREIRA RB; SUINAGA FA. 2014. Manejo de nematoides na cultura
500 do tomate. EMBRAPA. Brasília, DF. *Circular Técnica* 132. 7 p.
501
- 502 ROSA JMO. 2010. *Levantamento das espécies de nematoides das galhas em áreas de*
503 *cultivo de olerícolas e reação de espécies vegetais a Meloidogyne enterolobii e*
504 *M. javanica*. Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências
505 Agronômicas, Botucatu (SP), 120 p. (Tese de Doutorado).
506
- 507 ROSA JMO; WESTERICH JN; WILCKEN SR. 2013. Nematoides das Galhas em
508 Áreas de Cultivo de Olerícolas no Estado de São Paulo. *Nematologia Brasileira*.
509 37(1-2): 15-19.
510
- 511 ROSA JMO; OLIVEIRA SM; JORDÃO AL; SIVIERO A; OLIVEIRA CMG. 2014.
512 Nematoides fitoparasitas associados à mandioca na Amazônia brasileira. *ACTA*
513 *AMAZONICA* 44(2): 271-275.
514
- 515 SGRIGNOLI LA; ALMEIDA AG; OLIVEIRA AS; OTOBONI AMMB; PARDO RB.
516 MARINELLI PS; OTOBONI CE de M. 2014. Análise química do solo e
517 levantamento de fitonematoides em hortas do município de Marília/SP. *Revista*
518 *Científica Eletrônica de Agronomia – FAEF* 25 (1): 01-16.
519
- 520 TAYLOR AL, SASSER, JN. 1978. Biology, identification and control of root-knot
521 nematodes (*Meloidogyne* spp.). Raleigh NC, EUA. North Carolina State University.
522 111p.

APÊNDICE

Apêndice A



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO -
CÂMPUS MORRINHOS**

**FICHA DE INFORMAÇÕES PARA AUXÍLIO NA IDENTIFICAÇÃO DE NEMATÓIDES
PARASITAS DE PLANTAS**

Amostra nº _____

Material coletado: () solo () raízes () folhas () sementes.

Técnico responsável: _____

Contato: _____

Fone:(____) _____ **e-mail:** _____

Local de coleta: _____

Propriedade: _____ **Município:** _____ **Estado:** _____

Nome do Produtor: _____

Coordenadas geográficas: _____

Data da coleta: __/__/__ **Data de chegada:** __/__/__ **Data do resultado:** __/__/__

Espécie cultivada: _____ **Variedade ou Cultivar:** _____

Idade da planta: _____ **Área de plantio (ha):** _____ **Área com problema (ha):** _____

Estimativa de perdas devido aos nematóides (%): _____

Culturas anteriores (Últimos 2 anos): _____

Adubação química: () Sim () Não

Qual? _____ **quando:** _____

Produtos químicos utilizados: () Fungicida () Inseticida () Herbicida

Quais? _____

Adubação orgânica: () Sim () Não

Qual? _____ **quantidade adicionada:** _____

Sintomas nas raízes: Galhas: () Sim () Não

Outros sintomas: _____

Sintomas na parte aérea: _____

Outras doenças infectando a cultura: _____

Ocorrência de plantas daninha: _____

Quais? _____

Rotação ou sucessão de culturas: () Sim () Não

Quais? _____

Costuma deixar a área sem cultivo no período da entre safra: () Sim () Não

Textura do solo: () Arenoso () Areno-argiloso () Argiloso

Temperatura média anual (°C): _____

Ocorrência de chuvas nos últimos 30 dias: () Sim () Não

Área com sistema de irrigação: () Sim () Não

Observações: _____
